

Dispositif de réception d'un échantillon de fluide, et ses applications

L'invention a pour objet un dispositif de réception d'un échantillon de fluide ainsi que son utilisation. L'invention concerne en particulier un dispositif permettant notamment de prélever une faible quantité d'un fluide dans une zone de prélèvement et de  
5 transporter le fluide prélevé pour le déposer, dans une zone de dépôt, sur un substrat.

Le dispositif de l'invention peut en outre être utilisé comme une microcellule électrochimique.

L'invention est utilisable notamment dans le secteur des biotechnologies, et en particulier dans le domaine, actuellement en plein essor, de l'analyse d'échantillons  
10 biologiques, ou dans l'étude de la réactivité ou de l'affinité d'une molécule par rapport à une ou plusieurs autres. L'invention est également utilisable dans le domaine plus général d'analyse des matériaux.

Les dispositifs de transfert d'échantillons fluides d'origine biologique, ou contenant des molécules purifiées produites *in vitro* ou *in vivo* ont actuellement une  
15 importance croissante. On sait que l'une des tendances récentes dans ce domaine est de miniaturiser les dispositifs et de minimiser les quantités de réactifs à utiliser et/ou de produits à analyser ou à étudier. En effet, les quantités de produits disponibles sont souvent très faibles, ou les produits sont très coûteux. On utilise de plus en plus souvent, pour ces raisons, des dispositifs permettant d'effectuer sur des substrats appropriés des dépôts  
20 ponctuels organisés en réseaux (appelés en langue anglaise « microarrays »). Les substrats sont ensuite mis en contact avec des produits, connus ou inconnus, susceptibles d'avoir une interaction (réactivité ou affinité) vis-à-vis de la molécule ou des molécules déposées dans le microréseau. On procède ensuite à une analyse à l'aide d'un système de détection qui peut être par exemple optique, chimique, électrochimique, etc.

25 Il existe actuellement des dispositifs de dépôt avec ou sans contact mécanique avec le substrat.

Dans le cas d'un dépôt sans contact, le principe est d'aller prélever un fluide, contenant par exemple des molécules d'intérêt biologique, dans une zone de prélèvement, puis d'aller placer le dispositif au-dessus d'une zone de dépôt d'un substrat, et de délivrer  
30 une goutte du liquide sans que le dispositif entre en contact avec le substrat. Un tel dispositif est décrit par exemple dans le brevet US 5 763 278. Le dispositif de ce brevet US comporte un élément piézoélectrique venant comprimer une chambre de faible volume

et ainsi éjecter une goutte de liquide sur des substrats de type lamelle de microscope, ou sur tout autre support approprié, permettant ensuite l'analyse à l'aide d'un instrument de mise en évidence d'interactions. De tels dispositifs présentent l'avantage de ne pas altérer la surface sur laquelle le liquide doit être déposé, mais ils sont de maniement délicat car en  
5 général l'extrémité inférieure du dispositif (là où se forme la goutte à déposer) est très fragile. De tels dispositifs présentent également l'inconvénient de nécessiter des volumes de prélèvements assez importants. En outre, leur complexité de fabrication et de calcination est assez contraignante, notamment du fait de la nature des matériaux utilisés, en particulier les céramiques piézoélectriques qui ont tendance à se déformer avec le temps  
10 et avec les tensions appliquées.

Parmi les dispositifs de dépôt, certains utilisent des moyens fluidiques actifs (pistons, vannes, pompes) qui présentent des inconvénients tant en ce qui concerne la complexité de fabrication que les risques de fuites, de bouchage des conduits ou de formation de bulles.

15 Comme indiqué ci-dessus, il existe aussi des dispositifs qui opèrent par contact avec le substrat. Certains de ces dispositifs fonctionnent uniquement grâce au phénomène de capillarité. C'est le cas des dispositifs décrits dans les brevets US 5 770 151, 5 807 522 et 6 101 946 qui sont analysés ci-après.

Le brevet US 5 770 151 décrit un dispositif de prélèvement d'un échantillon  
20 liquide et de dépôt de microgouttes de cet échantillon, comprenant un tube creux dont une extrémité est fermée et l'autre est ouverte. La paroi du tube présente, au voisinage de l'extrémité ouverte, une fente longitudinale qui favorise le prélèvement par capillarité d'une faible quantité de liquide lorsque la partie d'extrémité ouverte est immergée dans ledit liquide. On effectue ensuite le dépôt de microgouttes par capillarité en mettant l'extrémité  
25 ouverte en contact successivement avec une pluralité de points d'une surface solide.

Le brevet US 5 807 522 décrit un dispositif de prélèvement et de déposition d'un échantillon liquide, comprenant deux éléments coextensifs espacés de façon à former un canal capillaire allongé comportant des fentes latérales et se terminant par une pointe. En immergeant la région de la pointe dans un liquide, un échantillon est retenu dans le  
30 canal capillaire, et lorsque la pointe vient au contact d'un support solide avec une impulsion suffisante, le ménisque à la base de l'échantillon liquide est rompu, ce qui permet le dépôt d'une microgoutte d'échantillon liquide sur le support.

Le brevet US 6 101 946 décrit une aiguille pour imprimer sur un support un microréseau par dépôt de microgouttes d'un échantillon liquide. Cette aiguille comprend une pointe taillée en forme de pyramide à base carrée, comportant une fente longitudinale formant deux becs qui sont de plus en plus rapprochés en allant vers l'extrémité de la pointe. La fabrication de telles aiguilles nécessite un usinage de haute précision et est donc  
5 très onéreuse.

Tous les dispositifs décrits dans les trois brevets analysés ci-dessus comportent une fente longitudinale dans le but de favoriser la rétention par capillarité d'une quantité relativement importante de liquide. L'obtention de ces fentes complique la fabrication de  
10 ces dispositifs et nécessite, notamment pour les dispositifs des brevets US 5 807 522 et 6 101 946, un usinage coûteux ; de plus, ces systèmes capillaires se bouchent si l'échantillon contient des particules en suspension, et ils sont par ailleurs assez difficiles à décontaminer.

Comme on le verra ci-après, le dispositif de l'invention peut être utilisé pour  
15 déposer et fixer sur un substrat, notamment par voie électrochimique, un ligand (substance biologique ou molécule quelconque capable d'interaction soit avec un réactif permettant l'analyse ou l'étude des propriétés du ligand, soit avec une molécule d'intérêt à détecter et/ou à quantifier).

Le brevet FR 2 789 401 décrit un procédé pour déposer de façon matricielle un  
20 ligand et le fixer électrochimiquement sur un support conducteur. Ce procédé peut être mis en œuvre notamment à l'aide d'un dispositif comprenant un réservoir en matériau isolant (polypropylène), de forme conique, contenant un milieu réactionnel fluide et une électrode. Le milieu fluide contient deux types de monomères électropolymérisables, d'une part du pyrrole, et d'autre part du pyrrole lié par covalence à un ligand. L'extrémité du cône est  
25 ouverte et a un faible diamètre. Par contact de cette extrémité avec un support conducteur soumis à une tension anodique par rapport à l'électrode, on peut déposer sur la zone de contact avec le substrat un polymère de pyrrole dont une partie des motifs sont liés par covalence avec le ligand. Dans un tel dispositif, le réservoir contient des quantités relativement importantes du milieu fluide, et l'extrémité du cône n'a pas de fonction de  
30 prélèvement, et le réservoir doit être rempli par un système fluidique actif (pompes, vannes, etc...). Dans un autre mode de réalisation, on utilise une électrode en forme de fil que l'on plonge dans un récipient contenant le milieu réactionnel fluide. Lorsque l'électrode

ressort du fluide, elle retient à son extrémité une goutte de fluide. On amène ensuite l'électrode au-dessus du support conducteur de façon à ce que la goutte vienne au contact du support tout en restant en contact avec l'électrode. En appliquant une tension électrique appropriée, on obtient comme précédemment la formation d'un dépôt de polymère de pyrrole. Un tel procédé nécessite un contrôle très précis de la distance électrode-support. En effet, seule la goutte, et non l'électrode, doit entrer en contact avec le support, car un court-circuit empêcherait la polymérisation. Il en résulte qu'un tel procédé, qui est d'ailleurs peu reproductible, n'est pas adapté à des applications industrielles. Par ailleurs, le volume de fluide transporté par l'aiguille est peu reproductible et soumis au séchage.

10           La demande WO 00/25925 décrit un dispositif pour déposer des gouttes de liquide sur un substrat. Ce dispositif comporte une cavité pouvant communiquer avec l'extérieur par l'intermédiaire d'un canal capillaire.

15           La présente invention a notamment pour objet un dispositif permettant de prélever et transporter un fluide, y compris dans le cas où l'échantillon fluide qui est la source du fluide à prélever n'est disponible qu'en très faibles quantités. Ce dispositif, qui peut fonctionner sans moyens fluidiques actifs tels que pistons, pompes ou vannes, est de fabrication très simple et donc d'un prix de revient relativement faible. Il ne comporte pas d'élément fragile et peut ainsi être utilisé durablement.

20           L'invention a pour objet un dispositif de réception, notamment pour prélever et transporter un échantillon de fluide, comportant une partie d'extrémité avec au moins une cavité débouchant par une ouverture sur l'extérieur, ladite cavité comprenant un fond, caractérisé par le fait que ladite partie d'extrémité présente une première zone hydrophobe adjacente à l'ouverture de la cavité et une deuxième zone hydrophile adjacente à la première et recouvrant au moins partiellement le fond de la cavité de sorte que lorsque  
25           ladite partie d'extrémité plonge dans ledit fluide puis en ressort, ladite cavité retient par capillarité une partie dudit fluide.

          Le dispositif de réception selon l'invention est de préférence agencé pour former une électrode, notamment une contre-électrode ou une électrode de travail, dans une cellule électrochimique.

30           Selon la présente invention, on entend par « zone hydrophobe » une zone présentant une affinité pour un fluide considéré, notamment un liquide, plus faible que la zone hydrophile.

Dans des modes de réalisation particuliers, le dispositif de l'invention peut encore présenter les caractéristiques suivantes, prises isolément ou, le cas échéant, en combinaison :

- le caractère hydrophobe est apporté par un revêtement hydrophobe,
- 5       - ledit revêtement hydrophobe est déposé sur ladite partie d'extrémité au moins à la périphérie de ladite ouverture (étant entendu que ce revêtement ne doit pas obturer l'ouverture),
- la zone hydrophobe s'étend dans la cavité, éventuellement jusqu'au fond de celle-ci, sans recouvrir le fond complètement, et/ou s'étend sur une paroi externe du
- 10   dispositif,
- la zone hydrophobe est réalisée en un matériau isolant électrique,
- ledit revêtement hydrophobe est réalisé en un matériau choisi par exemple parmi un Téflon<sup>®</sup> tel que le polytétrafluoroéthylène (PTFE), le polyfluorure de vinylidène (PVDF), le perfluoroalkoxy (PFA), les homopolymères ou copolymères d'éthylène, de
- 15   propylène ou d'isoprène, les polyuréthanes et les résines époxy, cette liste n'étant pas limitative,
- la zone hydrophile est réalisée en un matériau électriquement conducteur, métallique ou non-métallique,
- la partie d'extrémité comporte un corps, lequel est réalisé en un matériau
- 20   conducteur de l'électricité et/ou est revêtu d'un matériau conducteur de l'électricité, la cavité étant formée au moins partiellement par ce corps,
- ledit matériau conducteur de l'électricité est choisi notamment parmi l'acier, le titane, le platine, l'or, l'argent, le graphite et les fibres de carbone, cette liste n'étant pas limitative,
- 25       - ladite cavité présente l'une au moins des caractéristiques suivantes :
  - elle a un volume suffisant pour retenir un volume d'échantillon de fluide dans la gamme de 0,1 picolitre à 1  $\mu$ L, et en particulier de 1 à 50 nL,
  - elle a une profondeur de 5  $\mu$ m à 200  $\mu$ m,
  - le rapport profondeur de la cavité/diamètre de l'ouverture peut varier
  - 30   dans la gamme de 0,01 à 1, par exemple de 0,1 à 1,
  - la cavité peut avoir une section transversale circulaire ou polygonale,

- la cavité peut présenter une forme sensiblement cylindrique ou conique, ou avoir une paroi cylindrique prolongée par un fond conique,

- ledit dispositif peut comprendre ou non un élément amortisseur permettant d'atténuer les chocs susceptibles d'affecter ledit dispositif lorsque celui-ci entre en contact par sa partie d'extrémité avec un substrat solide afin d'y déposer ledit échantillon de fluide ; ledit élément amortisseur est par exemple un ressort,

- ledit dispositif comporte une tige ; la tige peut être réalisée en un matériau capable de déformation élastique, et peut comporter au moins une partie en forme de S jouant le rôle d'élément amortisseur,

- ledit dispositif comporte une tige apte à coulisser dans une autre pièce, notamment un cylindre agencé pour jouer le rôle d'élément amortisseur,

- le caractère hydrophile de la zone hydrophile peut être apporté par un revêtement en un matériau hydrophile.

De préférence, la cavité pour recevoir l'échantillon de fluide débouche directement sur l'extérieur, sans l'intermédiaire d'un canal capillaire.

Ainsi, la cavité peut être vidée et nettoyée relativement facilement.

Selon un mode de réalisation particulier, le dispositif de l'invention comprend une tige munie, extérieurement ou intérieurement, du côté de la partie d'extrémité, d'un manchon ayant une partie dépassante qui se prolonge au-delà de l'extrémité de la tige. La cavité est constituée, dans ce cas, par la partie dépassante de la paroi interne du manchon et par la face d'extrémité de la tige. Le manchon est réalisé par exemple en un matériau hydrophobe. En particulier, la tige peut être réalisée en un matériau conducteur, et le manchon en un matériau isolant, et si l'on veut utiliser le dispositif comme électrode, ladite face d'extrémité de la tige peut être polie et/ou revêtue d'un métal peu réactif, par exemple platine ou or, pour obtenir une électrode plus stable.

Le manchon dépassant peut également être réalisé en un matériau conducteur. Dans ce cas, au moins l'extrémité de la partie dépassante est revêtue d'une couche de matériau hydrophobe, de préférence isolant électrique. Le revêtement hydrophobe peut s'étendre sur la paroi externe du manchon conducteur et éventuellement sur une partie de la paroi dépassante interne.

L'invention a également pour objet un procédé permettant notamment de prélever et transporter un échantillon de fluide à l'aide d'un dispositif tel que défini dans

l'une quelconque des revendications précédentes. Ce procédé, qui peut fonctionner sans l'aide de moyens fluidiques actifs, comprend les étapes consistant à :

a) immerger la partie d'extrémité comportant ladite cavité dans un récipient contenant un fluide à prélever, puis l'en retirer, et

5 b) mettre en contact ladite partie d'extrémité avec un substrat solide.

Selon des modes de réalisation particuliers :

- on éloigne ensuite du substrat la partie d'extrémité, de façon à laisser en dépôt sur le substrat une goutte de l'échantillon fluide,

10 - si désiré, on répète les étapes a) et b) autant de fois que nécessaire pour déposer une pluralité d'échantillons fluides, identiques ou différents, sur le substrat solide, de façon à former sur ledit substrat des dépôts selon un réseau matriciel. Lorsque les échantillons sont différents, une opération de rinçage-séchage sera nécessaire.

15 Ce procédé peut être utilisé notamment avec un échantillon de fluide qui contient des molécules ou des substances biologiques à déposer et/ou à immobiliser sur le substrat. Il peut également être utilisé pour transporter un fluide vers une autre solution fluide, pour réaliser une dilution par exemple.

20 Le procédé de l'invention permet en outre d'utiliser le dispositif de réception comme électrode. Pour cela, le dispositif comporte un corps réalisé en un matériau conducteur, et ladite partie d'extrémité est munie d'un revêtement ou d'un manchon isolant et hydrophobe qui, bien entendu, n'obture pas l'ouverture de la cavité. Le substrat est en un matériau conducteur ou contient une ou des zones conductrices et, après ladite étape de mise en contact, l'ensemble forme une cellule électrochimique comprenant au moins deux électrodes indépendantes. Une ou des électrodes supplémentaire(s) peu(ven)t être rajoutée(s) soit sur le dispositif, soit sur le substrat.

25 Le fluide peut comporter un électrolyte et éventuellement d'autres composés en suspension.

Le procédé peut comporter l'étape consistant à effectuer une analyse de type électrochimique de la solution ou suspension prélevée.

30 Le procédé peut comporter l'étape consistant à utiliser l'ensemble précité comme une cellule électrochimique et faire passer un courant électrique, ou simplement mesurer une différence de potentiel entre ladite partie d'extrémité et ledit substrat ou entre la partie d'extrémité et une zone conductrice du substrat, par l'intermédiaire de

l'échantillon, contenant un électrolyte, qui est en contact à la fois avec le corps conducteur et avec le substrat. En utilisant un montage intensiostatique ou potentiostatique, on peut déterminer les caractéristiques de courant et de potentiel de l'échantillon de fluide prélevé à analyser ou du substrat, et cela sans modification notable de la composition de l'échantillon, car les concentrations des substances électroactives dissoutes ne sont  
5 pratiquement pas modifiées par les mesures effectuées.

En utilisant par exemple le dispositif de l'invention comme électrode de travail et le support conducteur, notamment une lame métallique, comme contre-électrode, la cavité du dispositif constitue une micro-cellule électrolytique permettant notamment  
10 d'étudier les réactions qui se produisent au niveau de l'électrode de travail. Un tel dispositif permet d'avoir toujours la même distance entre l'électrode de travail et la contre-électrode.

On peut également utiliser le procédé de l'invention pour effectuer l'immobilisation d'une ou plusieurs molécules ou substances biologiques sur le substrat conducteur selon une méthode électrochimique d'électrodéposition. Dans ce cas, le  
15 substrat constitue l'électrode de travail et l'extrémité du dispositif de réception sert de contre-électrode.

Un tel procédé d'électrodéposition peut être mis en œuvre notamment lorsque le fluide contient un monomère électropolymérisable, par exemple par oxydation anodique. On fait alors passer le courant électrique entre le corps et le substrat en portant ledit  
20 substrat à un potentiel nécessaire à la formation de polymère. Ainsi, l'extrémité du dispositif de prélèvement, réalisée en matériau conducteur, joue le rôle de contre-électrode, de sorte que le monomère va se polymériser au contact du substrat conducteur, par oxydation anodique, et former un dépôt ponctuel encore appelé « spot » adhérent sur ledit substrat. Un tel procédé permet donc de réaliser des micro-spots de polymère,  
25 éventuellement disposés en réseau matriciel, sur une surface conductrice.

L'invention a encore pour objet un procédé pour former une cellule électrochimique, le procédé comportant les étapes suivantes :

- fournir un dispositif de réception comportant une partie d'extrémité avec au moins une cavité débouchant par une ouverture sur l'extérieur, ladite cavité comprenant  
30 un fond, cette partie d'extrémité présentant une première zone hydrophobe électriquement isolante, adjacente à l'ouverture de la cavité, et une deuxième zone hydrophile



électriquement conductrice, adjacente à la première et recouvrant au moins partiellement le fond de la cavité,

- fournir une surface de réception, notamment un substrat, avec au moins une zone conductrice,

5                   - prélever un échantillon de fluide à l'aide du dispositif de réception,

- amener la partie d'extrémité du dispositif de réception au contact de la zone conductrice de la surface de réception, la première zone hydrophobe étant agencée pour isoler électriquement la deuxième zone hydrophile conductrice de la zone conductrice de la surface de réception.

10                L'invention a encore pour objet un procédé comportant les étapes suivantes :

- fournir un dispositif de réception comportant une partie d'extrémité avec au moins une cavité débouchant par une ouverture sur l'extérieur, ladite cavité comprenant un fond, cette partie d'extrémité présentant une première zone hydrophobe électriquement isolante, adjacente à l'ouverture de la cavité, et une deuxième zone hydrophile

15 électriquement conductrice, adjacente à la première et recouvrant au moins partiellement le fond de la cavité,

- fournir une surface de réception, notamment un substrat, avec au moins une zone conductrice,

- prélever un échantillon de fluide à l'aide du dispositif de réception,

20                   - amener la partie d'extrémité du dispositif de réception au contact de la zone conductrice de la surface de réception, la première zone hydrophobe étant agencée pour isoler électriquement la deuxième zone hydrophile conductrice de la zone conductrice de la surface de réception,

- établir un courant électrique entre la zone hydrophile du dispositif de

25 réception et la zone conductrice du substrat ou mesurer un paramètre électrique, par exemple une différence de potentiel, entre la zone conductrice du dispositif de réception et la zone conductrice du support de réception.

Le procédé peut comporter l'étape suivante :

- établir un courant électrique, notamment pulsé, entre la zone hydrophile du

30 dispositif de réception et la zone conductrice du substrat afin de polymériser une substance contenue dans la cavité du dispositif de réception.

Le procédé peut, en variante, comporter les étapes suivantes :

- mesurer un paramètre électrique, notamment une différence de potentiel, entre la zone conductrice du dispositif de réception et une surface conductrice, par exemple une tôle d'acier,

5       - répéter l'étape précédente afin de réaliser pour la surface conductrice une cartographie relative à une caractéristique physique ou chimique, par exemple un état d'oxydation, à partir des mesures obtenues.

On va maintenant décrire de façon plus détaillée, à titre illustratif, des modes de réalisation particuliers de l'invention, en faisant référence aux dessins annexés, dans lesquels :

- 10       - les figures 1 à 7 représentent, schématiquement et partiellement, des modes de réalisation particuliers de la partie d'extrémité du dispositif de l'invention,
- les figures 8 et 9 représentent, schématiquement et partiellement, des modes de réalisation d'un dispositif de réception avec un amortisseur,
- la figure 10 représente, schématiquement et partiellement, un support
- 15       d'une contre-électrode conforme à l'invention,
- les figures 11 et 12 représentent, schématiquement et partiellement, une électrode indicatrice conforme à deux exemples de mise en œuvre de l'invention, et
- les figures 13 à 15 illustrent un autre exemple de mise en œuvre de l'invention.

20       On a représenté sur la figure 1, de manière très schématique, un dispositif de réception 1 conforme à l'invention.

Le dispositif 1 comporte une tige 2 à une partie d'extrémité 2' de laquelle est ménagée une cavité de réception 3.

25       Dans l'exemple considéré, la cavité 3 présente une forme cylindrique d'axe X parallèle à la tige 2, avec une paroi interne 4 et un fond 5.

La tige 2 présente à son extrémité une tranche 6 recouverte d'un revêtement hydrophobe 8.

30       Dans l'exemple considéré, la tige 2 est réalisée en un matériau conducteur présentant des propriétés hydrophiles, ce matériau conducteur pouvant être par exemple de l'or, du platine ou un acier inoxydable du type inox 316L.

La tranche 6 s'étend à la périphérie de l'ouverture 7 de la cavité 3.

Dans l'exemple de la figure 1, le revêtement 8 s'étend uniquement sur la tranche 6, sans déborder dans la cavité 3, ni sur la paroi externe 10 de la tige 2.

En variante, le revêtement 8 peut s'étendre, comme illustré sur la figure 2, vers l'intérieur de la cavité 3 en recouvrant la paroi interne 4 partiellement.

5 Ce revêtement 8 peut atteindre le fond 5 ou non.

Le revêtement 8 peut également s'étendre sur la paroi externe 10 de la tige 2.

Dans les exemples qui viennent d'être décrits, la cavité de réception 3 est réalisée dans un évidement de la tige elle-même.

10 On a représenté sur la figure 3 un dispositif de réception 15 conforme à un autre exemple de mise en œuvre de l'invention, dans lequel la cavité de réception 16 est formée par un manchon 17 engagé à une extrémité d'une tige 18.

La cavité 16 présente un fond défini par la tranche 19 de la tige 18.

Le manchon 17 comporte une première partie 17a en prise sur la tige 18 et une deuxième partie 17b dépassant de la tranche 19.

15 Le manchon 17 est réalisé en matériau hydrophobe, étant par exemple constitué par une gaine thermorétractable en matière plastique.

Dans l'exemple de mise en œuvre illustré à la figure 4, la tige 18' comporte un rétreint annulaire 20 sur lequel est engagé le manchon 17.

20 On a représenté sur la figure 5 un dispositif de réception se différenciant de celui décrit en référence à la figure 1, par le fait que l'extrémité de la tige 2' est au moins partiellement biseautée, étant par exemple semi-biseautée ou entièrement biseautée.

Dans l'exemple de mise en œuvre illustré à la figure 6, le dispositif de réception 20 comporte une tige 21 à une extrémité de laquelle est fixé un insert métallique 22 comportant une cavité de réception 23.

25 L'insert 22 comporte une paroi externe cylindrique 24 recouverte d'un revêtement hydrophobe 25.

On a représenté sur la figure 7 un dispositif de réception 35 avec une tige métallique 36 présentant à une extrémité une tête 37, une partie de la tige 36 et cette tête 37 étant noyées dans un revêtement en matériau hydrophobe 38.

30 Ce revêtement 38 comporte au droit de la tête 37 une cavité 39 permettant de recevoir un échantillon de fluide.

On a représenté sur la figure 8 un dispositif 30 conforme à l'invention, comportant une tige métallique 31, laquelle présente une partie 32 repliée en S agencée pour définir une zone élastiquement déformable formant un amortisseur.

Cet amortisseur peut ainsi être réalisé de manière particulièrement simple et permet d'amortir des chocs suivant une direction perpendiculaire au plan du substrat 33. Dans l'exemple considéré, le substrat 33 comporte une lame d'or.

L'extrémité inférieure 34 de la tige 31 définit un dispositif de réception 20 décrit en référence à la figure 6.

Dans l'exemple de mise en œuvre illustré à la figure 9, le dispositif de réception est solidaire d'une tige 41 présentant à une extrémité supérieure une tête 42 s'engageant dans un logement d'un support 40.

Cette tête 42 est rappelée dans sa position de repos par l'intermédiaire d'un ressort 43 distinct de la tige 41.

Ainsi, la tige 41 peut être dépourvue de partie repliée en S telle que celle décrite en référence à la figure 8.

Le ressort 43 peut être remplacé par tout autre élément de rappel élastique tel qu'une matière elastomérique, par exemple.

Ce support 40 peut être solidaire d'un bras manipulateur d'un automate permettant de déplacer la tige suivant des directions horizontales et verticales.

Un tel automate peut être agencé de manière à pouvoir actionner une pluralité de dispositifs de réception.

En utilisant un automate 3-axes, il est possible de déposer sur un substrat des gouttes selon un réseau matriciel.

Un mode d'utilisation typique consiste à amener le dispositif de réception au-dessus de la zone de prélèvement, et à déplacer verticalement la tige vers le bas jusqu'à ce que son extrémité plonge dans le fluide à transférer. Suivent un déplacement horizontal jusqu'à l'aplomb de la zone de dépôt sur un substrat, et une descente verticale jusqu'au contact du substrat et le dépôt par capillarité d'une microgoutte. Ensuite, le dispositif est remonté verticalement, puis déplacé jusqu'à une zone de nettoyage de l'extrémité, par exemple par jet d'eau, puis jet d'air pour le séchage. On peut ensuite répéter les opérations avec le même échantillon de fluide ou un autre échantillon de fluide.

Lorsque le revêtement ou manchon hydrophobe est réalisé en un matériau isolant, il est possible d'utiliser le dispositif de l'invention comme électrode, la cavité 23 jouant le rôle de micro-cellule électrochimique.

On va décrire plus en détails ci-après différentes applications de l'invention.

5

**Exemple 1 : Réalisation de puces à protéines par dépôt électrochimique**

Il s'agit de réaliser une puce comportant 60 plots de 6 molécules différentes, chacune immobilisée en 10 exemplaires ; chaque plot est disposé sur un quadrillage virtuel carré de 8\*8 plots, avec un pas de 700  $\mu\text{m}$  entre le centre de chaque plot et sur une surface  
10 totale de 5\*5  $\text{mm}^2$ . Quatre zones ne seront pas fonctionnalisées avec des espèces biologiques, le substrat restera « nu ».

Les six molécules différentes sont des anticorps : un anticorps anti-hCG (Sigma), un anticorps mAb 11E12 anti-peptide (Sanofi Diagnostics Pasteur), un anticorps anti-HSA (Sigma), un anticorps anti-avidine (Sigma), un anticorps anti-IgG de lapin  
15 (Sigma), un anticorps anti-BSA (Sigma).

Le but final de l'expérience est d'observer les interactions en parallèle, en temps réel et sans marqueur de ces anticorps avec les molécules contre lesquelles elles sont dirigées, injectées successivement au contact de la puce, ceci par la technique d'imagerie par Résonance des Plasmons de Surface telle que celle décrite dans la demande  
20 WO 02/48689. Toutes ces molécules sont préalablement couplées à des monomères de pyrrole sur leur liaison  $\text{NH}_2$ . Après cela, chaque protéine couplée à une ou des molécules de pyrrole, à une concentration de 10  $\mu\text{M}$  dans un milieu réactionnel constitué de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  50 mM (Sigma) +  $\text{NaCl}$  50 mM (Merck), à un pH de 6,8, est déposée au fond d'un des puits d'une microplaque ayant 96 puits à fond conique. Quelques microlitres de  
25 produits, typiquement inférieurs ou égaux à 5  $\mu\text{L}$ , sont suffisants pour permettre de réaliser plusieurs dizaines de dépôts par espèce.

Les substrats utilisés dans cet exemple sont des substrats prismatiques, de base 12,5\*25  $\text{mm}^2$  et de hauteur 9 mm (en verre BK7 ou SF11), sur lesquels on a déposé une couche de chrome d'environ 20 Angströms qui sert de couche d'accrochage et une couche  
30 d'or d'environ 500 Angströms (dépôts effectués par évaporation sous vide). Ces types de substrats sont particulièrement adaptés à des mesures faites par Résonance des Plasmons de Surface.

On connecte ensuite la couche d'or à un potentiostat de type EGG 273 formant une sortie électrode de travail. En ce qui concerne la partie contre-électrode de cette cellule électrochimique, on procède comme suit :

- on insère un dispositif de réception, par exemple le dispositif de réception 30 décrit en référence à la figure 8, dans un cylindre 50 en inox avec un évidement 51 recevant le dispositif 30, comme illustré à la figure 10,
- la cavité 23 est de section circulaire, de diamètre interne de 250  $\mu\text{m}$  ; le diamètre externe du manchon isolant 25 est de 450  $\mu\text{m}$  et la profondeur de la cavité 23 est de 50  $\mu\text{m}$ , ce qui correspond à un volume total de la cavité de 2,5 nL environ,
- pour maintenir le dispositif 30 dans l'évidement 51, on utilise une vis de blocage en inox 52, qui permet également d'établir la connexion électrique entre la partie conductrice de la cavité 23 du dispositif 30 et la sortie contre-électrode, *via* un fil électrique 53,
- le cylindre 50 peut être maintenu en position verticale soit dans un mandrin, soit être installé sur un bras manipulateur 54, représenté très schématiquement en pointillés sur la figure 10, par exemple d'un automate industriel de déplacement 3-axes, de dénomination GENESIS commercialisé par la société TECAN par exemple, grâce à un filetage réalisé sur la partie supérieure de ce cylindre ; on note qu'une électrode de référence n'est pas utile dans ce cas présent, celle-ci étant directement connectée à la contre-électrode.

Le bras manipulateur 54 portant le cylindre 50 se place à la verticale du puits contenant les anticorps anti-hCG.

Le bras manipulateur 54 descend dans le puits de façon à ce que la cavité 23 du dispositif 30 plonge complètement dans la solution.

Un contact mécanique au fond du puits est possible et n'altère pas la fonctionnalité du dispositif. Une partie de la solution, soit quelques nL dans ce cas, pénètre dans la cavité par capillarité.

Le bras manipulateur 54 est relevé verticalement et est déplacé au-dessus de la zone de déposition sur le substrat prismatique doré, et plus particulièrement au-dessus d'une des zones prédéterminée de la matrice. Le bras manipulateur 54 descend ensuite jusqu'à l'obtention du contact mécanique entre le dispositif 30 et le substrat.

Le contact électrique, qui se fait entre le fond conducteur de la cavité 23 et le substrat par le biais du milieu réactionnel conducteur, ne nécessite pas nécessairement de contact mécanique du dispositif de réception 30 contre le substrat. Il est toutefois préférable de réaliser un tel contact mécanique.

5 Une fois le bras 54 immobilisé, on établit une différence de potentiel de +2,4 V pendant 250 ms entre la contre-électrode et l'électrode de travail grâce au potentiostat EGG 273. Il y a alors formation d'un fin film de polypyrrole sur le substrat par l'intermédiaire duquel les biomolécules, c'est-à-dire les anticorps anti-hCG, sont fixées sur le support prismatique recouvert d'or.

10 Le bras manipulateur 54 peut ensuite être relevé et ramené dans le puits précédent pour réaliser un nouveau prélèvement ; le rinçage et le séchage du dispositif ne sont pas indispensables dans ce cas puisque l'on prélève plusieurs fois le même produit.

Une fois les dix plots réalisés suivant le même procédé, le bras manipulateur 54 est déplacé à la verticale d'un puits de la microplaque rempli d'eau ultra-pure. Le bras 54 effectue alors trois allers-retours dans ce puits pour correctement rincer le dispositif 30, lequel peut indifféremment venir ou pas en contact avec le fonds du puits sans altération de sa fonctionnalité future. Ensuite, le bras manipulateur 54 est amené au contact d'un papier absorbant, par exemple d'un papier optique commercialisé par la société Kodak. Cette opération de séchage est réalisée trois fois, en trois endroits différents du papier absorbant.

20 Après cette phase de séchage, le bras manipulateur 54 est commandé en vue du prélèvement d'un deuxième anticorps, un anti-HSA par exemple, selon la séquence décrite ci-dessus, pour déposer par voie électrochimique les 10 plots. On procède ainsi pour les quatre autres espèces.

De la même façon, on peut déposer 96 plots d'espèces différentes, en effectuant une phase de nettoyage-rinçage-séchage à la fin de chaque électrodéposition.

**Exemple 2 : Réalisation d'une puce 384 plots présentant des séquences d'ADN pertinentes pour l'étude de la mucoviscidose (dépôt par adsorption passive)**

30 Dans cet exemple, les substrats sont des lames de microscope (75\*25\*1 mm<sup>3</sup>, commercialisées sous la dénomination ESCO par la société VWR international) sur lesquelles on dépose préalablement une couche de chrome de 20 Angströms environ et une couche d'or de 500 Angströms environ (dépôts réalisés par évaporation sous vide).

Cette lame est fonctionnalisée avec un revêtement qui favorise l'immobilisation de biomolécules par interactions électrostatiques. Il s'agit d'une monocouche d'acide 11-mercapto-undecanoïque (MUA) déposée sur l'or puis une monocouche de polyéthylène imine (PEI) (méthode décrite par Bassil *et al.*, Sensors and Actuators B94 (2003) 313-324). Cette surface est alors mise en contact avec une solution d'extravidine (Sigma) à 0,2 g/L dans du PBS (Sigma) pendant 30 minutes avant d'être rincée à l'eau. L'extravidine se fixe alors sur le PEI grâce aux interactions électrostatiques.

Le substrat est placé dans la zone de travail d'un automate 3-axes, par exemple celui commercialisé sous la dénomination Q-Array de la société Genetix, qui possède déjà des emplacements prédéfinis pour des lames de microscope de ce format et également pour des microplaques standard avec un support comportant un dispositif amortisseur intégré, l'amortissement se faisant sous son propre poids, et dans lequel on insert le dispositif 40 décrit par exemple en référence à la figure 9.

Les dimensions du dispositif sont, dans ce cas, les suivantes : le diamètre interne de la cavité de réception d'échantillon est de 100  $\mu\text{m}$ , sa profondeur de 50  $\mu\text{m}$  et le diamètre du manchon externe isolant PTFE est de 300  $\mu\text{m}$ .

Plusieurs séquences oligonucléotidiques (300 séquences différentes au total), fonctionnalisées avec une biotine en 5', sont placées séparément dans les puits d'une microplaque à 384 puits, dans un tampon PBS, en présence de 1,5 M de bétaine pour éviter que les espèces ne sèchent trop rapidement sur la puce. La concentration des séquences est de 1  $\mu\text{M}$  dans chacun des puits. Ces séquences ont été choisies de manière à déterminer avec certitude le type de mutation mis en cause dans la mucoviscidose. Chaque espèce est déposée en trois exemplaires répartis de manière aléatoire sur une matrice rectangulaire virtuelle composée de 16\*64 points espacés de 400  $\mu\text{m}$  (1024 points de mesure en tout).

Le bras qui porte le dispositif décrit précédemment fait plonger la tige dans un des puits de la microplaque. Le prélèvement de produit se fait par capillarité lorsque la tige est immergée dans le liquide contenant les oligonucléotides.

Ensuite le bras manipulateur 54 remonte et se positionne au-dessus d'un des points de la matrice. Le bras descend à la verticale et, lors du contact mécanique entre le substrat et le dispositif, ce dernier dépose sur le substrat une partie du volume prélevé sous la forme d'une microgoutte de volume de 1 à 2 nL environ.



Le bras 54 retourne ensuite au-dessus du même puits qu'auparavant, et réalise deux nouvelles fois le cycle précédent afin de réaliser deux autres plots de la même espèce biologique.

5 Une fois que les trois plots de chacune des espèces ont été spottés, le bras remonte encore et se place à la verticale d'une fontaine projetant de l'eau ultrapure sur la tige, pour évacuer le fluide encore présent dans la cavité ou sur la paroi extérieure du dispositif.

Par la suite, le bras amène le dispositif au-dessus d'un élément de séchage produisant par exemple un flux d'air chaud et sec et y reste quelques dizaines de secondes.

10 Le dispositif est alors prêt à aller prélever un nouveau produit dans un autre puits, jusqu'au prélèvement et au dépôt de tous les types de séquences oligonucléotidiques.

### **Exemple 3 : Techniques de fluorescence**

On peut enfin réaliser l'analyse de la puce par des techniques de fluorescence.

15 Le but est de comparer le profil d'expression d'un patient malade par rapport à un patient sain. Pour ce faire, on marque préalablement l'ADN d'un patient sain par un marqueur fluorescent (Cy3 par exemple, Sigma) et celui d'un patient malade par un autre marqueur fluorescent (Cy5 par exemple, Sigma). On mélange les sérums des deux patients et on met en contact ce mélange avec la puce fonctionnalisée. On laisse les produits en contact  
20 pendant 30 mn, à 37 °C. Ensuite, on rince la puce et on l'insère dans un lecteur de fluorescence, par exemple, le Genechip™ Scanner 3000. L'analyse de la fluorescence des deux marqueurs sur chacun des spots, correspondants aux différentes séquences d'oligonucléotides, permet alors de déterminer quels sont les génotypes sur-exprimés ou sous-exprimés chez le patient malade par rapport au patient sain.

25

### **Exemple 4 : Dépôt en parallèle**

On peut mettre en œuvre l'invention pour le dépôt en parallèle, avec ou sans électrochimie, avec 8 tiges qui viennent prélever dans une plaque 1536 puits vers 8 substrats différents (par exemple 8 tiges installées sur un automate de dénomination

30 GENESIS commercialisé par la société TECAN).

**Exemple 5 : Utilisation du dispositif de réception comme électrode indicatrice ou électrode de travail**

Dans les deux exemples suivants la tige est utilisée en tant qu'électrode de travail dans une micro-cellule électrochimique à deux électrodes. Ce type de dispositif permet par exemple de caractériser des molécules à l'état réduit ou oxydé ou d'étudier la synthèse de polymères par voie électrochimique.

**Exemple 6 : Utilisation en mode galvanostatique**

En utilisant une électrode de très petite superficie, de l'ordre du  $\text{mm}^2$ , que l'on appelle électrode indicatrice, il est possible de déterminer des caractéristiques courant-potentiel tout en conservant le système pratiquement sans modification de composition, c'est-à-dire sans modifier substantiellement les concentrations des substances électro-actives dissoutes au sein de l'électrolyte, malgré le passage du courant.

On réalise une électrode solide 60 illustrée sur la figure 11, en insérant une tige 61 en platine, or, argent, graphite ou inox de diamètre compris entre 0,5 mm et 2 mm dans une gaine isolante 62 en verre, en polyéthylène, ou en Téflon<sup>®</sup> isolant par exemple, et en dégageant la section droite de la tige pour la mise en contact avec la solution. On obtient ainsi une électrode de disque plan. L'extrémité de la tige en contact avec la solution peut être polie avec, par exemple, de la pâte diamantée.

La cavité 63, à paroi continue, permet de créer une micro-cellule électrochimique remplie par capillarité de l'échantillon à analyser.

L'électrode de travail 60 formée par la tige 61 est connectée à la sortie d'une électrode de travail d'un potentiostat. Cette connexion peut se faire directement sur la tige ou sur une pièce métallique dans laquelle la tige vient s'emmancher, et conçue pour s'adapter sur un automate.

La contre-électrode 65 peut être une feuille de platine, une lame d'or, un support plastique recouvert d'ITO (oxyde d'indium et d'étain), ou une plaque de silicium, par exemple.

Le milieu réactionnel pourra être une solution ionique à base d'ions  $\text{Li}^+$ ,  $\text{ClO}_4^-$  ou de PBS par exemple, contenant les espèces chimiques à analyser.

L'extrémité de l'électrode 60 est mise en contact avec la contre-électrode 61 et un courant de quelques dizaines de microampères est imposé. La tension est ensuite mesurée.

On peut de la même façon utiliser ce dispositif en mode potentiostatique.

5 Dans ce cas, on impose une tension entre les deux électrodes et l'on analyse le courant généré par cette tension.

Comme précédemment, on se sert de la tige comme électrode de travail, d'une lame d'or comme contre-électrode et de la cavité comme micro-cellule électrochimique. On étudie ensuite les réactions qui se produisent au niveau de l'électrode de travail  
10 constituée par la tige.

Ce dispositif permet d'avoir toujours la même distance entre l'électrode de travail et la contre-électrode.

Le manchon 62 peut être soit de nature isolante, soit conductrice et recouvert d'une couche 66 d'un matériau isolant 67, par exemple un Téflon® isolant rigide, comme  
15 illustré sur la figure 12.

**Exemple 7 : Utilisation de la tige comme électrode auxiliaire (contre-électrode)**

Dans cette configuration, la tige aura pour fonction de servir de contre-  
20 électrode et de micro-cellule. Cela permet de réaliser des micro-spots de polymère sur une surface métallique de quelques centaines de µm de diamètre.

La tige est en inox ou en inox recouvert d'un métal, comme par exemple du platine, de l'or, de l'argent. Le manchon est en inox recouvert ou non d'un métal pour sa partie interne et recouvert de Téflon® sur sa partie externe. Le manchon peut également  
25 être constitué d'un matériau isolant.

On impose une tension de 2 V environ, à l'aide d'un potentiostat ou d'un générateur de tension par exemple, entre la tige et la lame d'or qui sert, dans l'exemple considéré, d'électrode de travail.

La cavité est remplie d'une solution ionique contenant par exemple du pyrrole  
30 puis la tige vient en contact sur une lame de verre recouverte de chrome et d'or formant ainsi une micro-cellule électrochimique. Un potentiel est alors imposé entre les deux électrodes. Le courant et la charge de synthèse du polymère (polypyrrole) ainsi formé, sur

la surface de la lame dorée, sont enregistrés. Plusieurs spots peuvent ainsi être réalisés sur une même surface.

Le système d'amortissement permet de ne pas endommager la tige ainsi que la lame d'or. La lame d'or est également protégée par la couche de Téflon® « mou » à l'extrémité de la tige.

Le fait de recouvrir l'intérieur de la cavité avec un métal tel que du platine peut permettre d'améliorer la synthèse électrochimique du polymère.

### **Exemple 8 : Synthèse de dépôts**

On utilise par exemple un dispositif de réception 70 comportant une tige 71 en inox 304L (qualité chirurgicale) et un manchon 72 en Téflon®, comme illustré sur les figures 13 et 14.

Le manchon 72 en Téflon® déborde en dessous de l'extrémité de la tige 71 de manière à définir une cavité 73.

Cette cavité 73 a par exemple un diamètre d'environ 260 µm et une profondeur d'environ 100 µm et permet de recevoir une solution à polymériser 74.

La tige 71 en inox sert de contre-électrode.

La solution à polymériser 74 est déposée sur un substrat 75 recouvert d'une couche d'or servant d'électrode de travail, comme illustré sur la figure 15.

La tige 71 et le substrat 75 sont reliés à un potentiostat 76.

La synthèse de dépôts est effectuée par la méthode d'électrospotting en appliquant un pulse électrique au travers de la tige 71.

Le manchon 72 en Téflon® permet d'isoler la contre-électrode de l'électrode de travail, la cavité 73 formant une cellule électrochimique dans laquelle le pulse électrique déclenche la polymérisation de la solution.

Le dispositif de réception 70 permet en outre de capturer une goutte d'environ 50 nl en plongeant celui-ci dans la solution à polymériser, et d'assurer son transport jusqu'au-dessus de l'électrode de travail.

La tige 71 est placée sur un bâti (non représenté) dans lequel elle peut coulisser verticalement sous l'action de son propre poids. Les déplacements sont assurés par des vérins motorisés pilotés par un automate.

Les conditions de l'électrospotting (potentiel, temps) sont optimisées pour obtenir des dépôts de pyrrole et d'ODN pyrrole. Lors de la polymérisation, on enregistre la charge délivrée par le potentiostat 76 sous forme d'un chronoampérogramme.

5 Une fois les dépôts faits, on réalise une hybridation avec un ODN complémentaire marqué afin de mettre en évidence les plots contenant des ODN. La détection est ici réalisée par un microscope à fluorescence équipé d'une caméra CCD noir et blanc pour l'acquisition des images. Les intensités de fluorescence sont exprimées en niveaux de gris.

10 **Exemple 9 : Procédé pour réaliser une cartographie redox d'une surface conductrice**

Cet exemple concerne l'utilisation d'un dispositif de réception selon l'invention pour caractériser une surface métallique, telle qu'une tôle d'acier, et d'en réaliser une cartographie en deux dimensions de son état d'oxydation.

15 Le dispositif de réception utilisé ici est sensiblement le même que celui utilisé dans l'exemple précédent.

Une couche d'argent est ajoutée par réaction électrochimique à son extrémité hydrophile, c'est-à-dire sur le fond de la cavité.

20 L'électrolyte utilisé pour réaliser la mesure du potentiel résiduel entre l'électrode argentée et la tôle est par exemple du KCl 100mM. Le dispositif de réception et l'électrolyte sont déposés sur un premier point de la surface à cartographier, la valeur de la différence de potentiel entre la tôle et le dispositif de réception est enregistrée. Le dispositif de réception est ensuite rincé, séché et rempli à nouveau d'électrolyte puis déposé en un deuxième point de la surface à cartographier.

25 Ce procédé permet de détecter d'éventuels points d'oxydation de l'acier. Les différents traitements de la tôle peuvent donc être facilement étudiés et comparés.

## **REVENDICATIONS**

1. Dispositif de réception (1 ; 15 ; 20 ; 30 ; 35 ; 60) d'un échantillon de fluide, agencé pour former une électrode, notamment une contre-électrode ou une électrode de travail, dans une cellule électrochimique, le dispositif comportant une partie d'extrémité avec au moins une cavité (3 ; 16 ; 23 ; 39 ; 63) débouchant par une ouverture sur l'extérieur, ladite cavité comprenant un fond, caractérisé par le fait que ladite partie d'extrémité présente une première zone hydrophobe (8 ; 17b ; 25 ; 38 ; 62 ; 67) isolante électriquement, adjacente à l'ouverture de la cavité et une deuxième zone hydrophile (4 ; 5 ; 19 ; 22 ; 37 ; 61 ; 66) électriquement conductrice, adjacente à la première et recouvrant au moins partiellement le fond de la cavité de sorte que lorsque ladite partie d'extrémité plonge dans ledit fluide puis en ressort, ladite cavité retient par capillarité une partie dudit fluide.

2. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé par le fait que le caractère hydrophobe est apporté par un revêtement hydrophobe, ledit revêtement hydrophobe étant notamment déposé sur ladite partie d'extrémité, au moins à la périphérie de ladite ouverture.

3. Dispositif selon la revendication 2, caractérisé par le fait que la zone hydrophobe s'étend dans la cavité, éventuellement jusqu'au fond de celle-ci, sans recouvrir le fond complètement, et/ou s'étend sur une paroi externe (10) du dispositif.

4. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait que la zone hydrophile est réalisée en un matériau électriquement conducteur, métallique ou non métallique.

5. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait que la partie d'extrémité comporte un corps, lequel est réalisé en un matériau conducteur de l'électricité et/ou est revêtu d'un revêtement d'un matériau conducteur de l'électricité, la cavité étant formée au moins partiellement par ce corps.

6. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait que la cavité présente l'un au moins des caractères suivants :

- ladite cavité a un volume suffisant pour retenir un volume d'échantillon de fluide dans la gamme de 0,1 picolitre à 1  $\mu\text{L}$ , et en particulier de 1 à 50 nL,
- ladite cavité a une profondeur de 5 à 200  $\mu\text{m}$ ,

- le rapport profondeur de la cavité/diamètre de l'ouverture peut varier dans la gamme de 0,01 à 1, par exemple de 0,1 à 1,

- la cavité peut avoir une section transversale circulaire ou polygonale,

5 - la cavité peut présenter une forme sensiblement cylindrique ou conique, ou avoir une paroi cylindrique prolongée par un fond conique.

7. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait que ledit dispositif comprend une tige munie, du côté de la partie d'extrémité, d'un manchon ayant une partie dépassante qui se prolonge au-delà de l'extrémité de la tige.

10 8. Dispositif selon la revendication 7, caractérisé par le fait que ledit manchon est réalisé en un matériau hydrophobe.

9. Dispositif selon la revendication 7, caractérisé par le fait que ledit manchon est réalisé en un matériau conducteur, et au moins l'extrémité de la partie dépassante est revêtue d'une couche de matériau hydrophobe, de préférence isolant électrique.

15 10. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait qu'il comporte un élément amortisseur permettant d'atténuer les chocs susceptibles d'affecter ledit dispositif lorsque celui-ci entre en contact par sa partie d'extrémité avec une zone de dépôt sur un substrat solide.

20 11. Dispositif selon la revendication 10, caractérisé par le fait que ledit élément amortisseur est un ressort.

12. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel ledit dispositif comporte une tige.

13. Dispositif selon la revendication 12, caractérisé par le fait que ladite tige est réalisée en un matériau capable de déformation élastique.

25 14. Dispositif selon la revendication 13, caractérisé par le fait que ladite tige comporte au moins une partie en forme de S jouant le rôle d'élément amortisseur.

15. Dispositif selon la revendication 11, caractérisé par le fait que ladite tige coulisse dans une autre pièce afin d'amortir le contact avec le substrat.

30 16. Procédé pour prélever et transporter un échantillon de fluide à l'aide d'un dispositif tel que défini dans l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant les étapes consistant à :

a) immerger la partie d'extrémité comportant ladite cavité dans un récipient contenant un fluide à prélever, puis l'en retirer, et

b) mettre en contact ladite partie d'extrémité avec un substrat solide.

17. Procédé selon la revendication 16, caractérisé par le fait que l'on éloigne  
5 ensuite du substrat la partie d'extrémité, de façon à laisser en dépôt sur le substrat une goutte d'échantillon fluide.

18. Procédé selon la revendication 16 ou 17, dans lequel on répète les étapes a)  
et b) autant de fois que nécessaire pour déposer une pluralité d'échantillons fluides,  
identiques ou différents, sur le substrat solide, de façon à former sur ledit substrat des  
10 dépôts selon un réseau matriciel.

19. Procédé selon l'une quelconque des revendications 16 à 18, caractérisé par  
le fait que l'échantillon de fluide contient des molécules ou des substances biologiques à  
déposer sur le substrat.

20. Procédé selon l'une quelconque des revendications 16 à 19, caractérisé par  
15 le fait que ledit fluide contient un électrolyte et éventuellement d'autres composés en suspension.

21. Procédé selon la revendication 20, caractérisé par le fait que l'on effectue  
une analyse de type électrochimique de la solution ou suspension prélevée.

22. Procédé selon la revendication 20, caractérisé par le fait que l'on effectue  
20 une mesure de potentiel entre ladite partie d'extrémité et ledit substrat par l'intermédiaire de l'échantillon.

23. Procédé selon la revendication 20, caractérisé par le fait que le dispositif  
comporte un corps réalisé en un matériau conducteur, et ladite partie d'extrémité est munie  
d'un revêtement isolant, et ledit substrat est en un matériau conducteur, et dans lequel,  
25 après l'étape b), on fait passer un courant électrique entre ladite partie d'extrémité et ledit  
substrat, par l'intermédiaire de l'échantillon fluide.

24. Procédé selon la revendication 21, caractérisé par le fait que ledit fluide  
contient un monomère électropolymérisable par oxydation, et l'on fait passer le courant  
électrique entre ledit corps et le substrat en portant ledit substrat à un potentiel nécessaire à  
30 la formation de polymère.

25. Procédé pour former une cellule électrochimique, le procédé comportant  
les étapes suivantes :



- fournir un dispositif de réception comportant une partie d'extrémité avec au moins une cavité débouchant par une ouverture sur l'extérieur, ladite cavité comprenant un fond, cette partie d'extrémité présentant une première zone hydrophobe électriquement isolante, adjacente à l'ouverture de la cavité, et une deuxième zone hydrophile électriquement conductrice, adjacente à la première et recouvrant au moins partiellement le fond de la cavité,

- fournir une surface de réception, notamment un substrat, avec au moins une zone conductrice,

- prélever un échantillon de fluide à l'aide du dispositif de réception,

- amener la partie d'extrémité du dispositif de réception au contact de la zone conductrice de la surface de réception, la première zone hydrophobe étant agencée pour isoler électriquement la deuxième zone hydrophile conductrice de la zone conductrice de la surface de réception.

26. Procédé comportant les étapes suivantes :

- fournir un dispositif de réception comportant une partie d'extrémité avec au moins une cavité débouchant par une ouverture sur l'extérieur, ladite cavité comprenant un fond, cette partie d'extrémité présentant une première zone hydrophobe électriquement isolante, adjacente à l'ouverture de la cavité, et une deuxième zone hydrophile électriquement conductrice, adjacente à la première et recouvrant au moins partiellement le fond de la cavité,

- fournir une surface de réception, notamment un substrat, avec au moins une zone conductrice,

- prélever un échantillon de fluide à l'aide du dispositif de réception,

- amener la partie d'extrémité du dispositif de réception au contact de la zone conductrice de la surface de réception, la première zone hydrophobe étant agencée pour isoler électriquement la deuxième zone hydrophile conductrice de la zone conductrice de la surface de réception,

- établir un courant électrique entre la zone hydrophile du dispositif de réception et la zone conductrice du substrat ou mesurer un paramètre électrique, par exemple une différence de potentiel, entre la zone conductrice du dispositif de réception et la zone conductrice du substrat.

27. Procédé selon la revendication 26, comportant l'étape suivante :

- établir un courant électrique, notamment pulsé, entre la zone hydrophile du dispositif de réception et la zone conductrice du substrat afin de polymériser une substance contenue dans la cavité du dispositif de réception.

28. Procédé selon la revendication 26, comportant les étapes suivantes :

5           - mesurer un paramètre électrique, notamment une différence de potentiel, entre la zone conductrice du dispositif de réception et une surface conductrice, par exemple une tôle d'acier,

10           - répéter l'étape précédente afin de réaliser pour la surface conductrice une cartographie relative à une caractéristique physique ou chimique, par exemple un état d'oxydation, à partir des mesures obtenues.

1 / 4

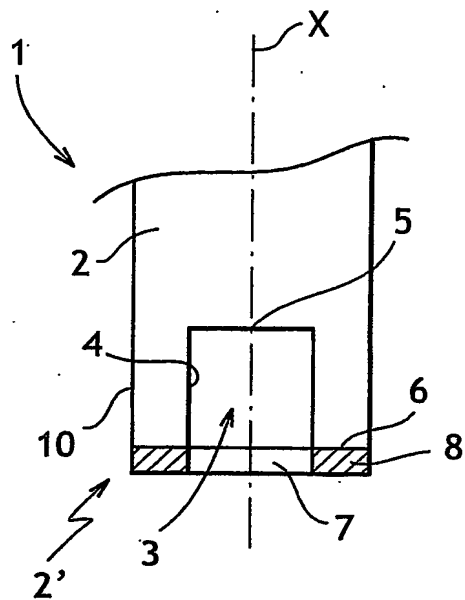


FIG.1

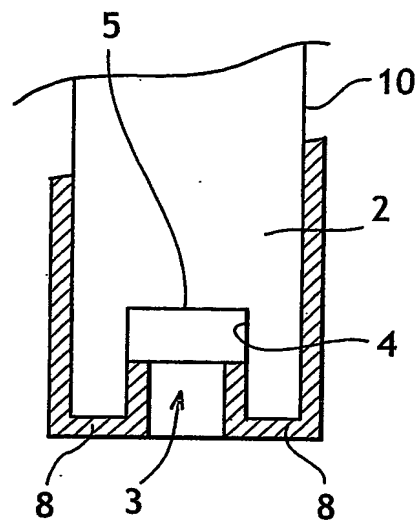


FIG.2

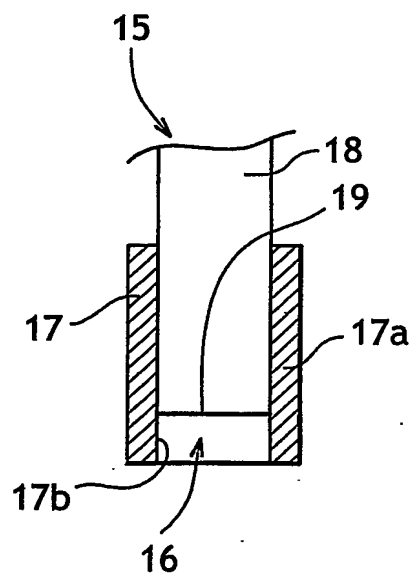


FIG.3

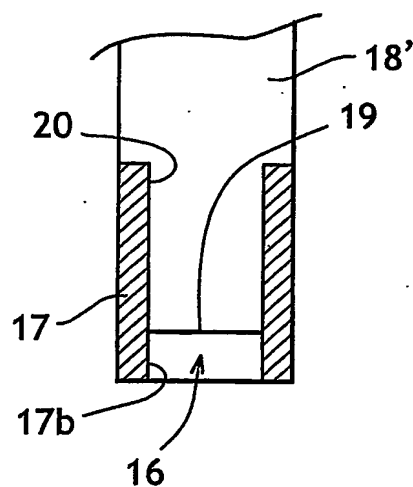


FIG.4

2 / 4

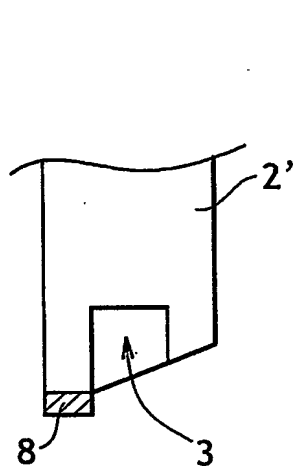


FIG.5

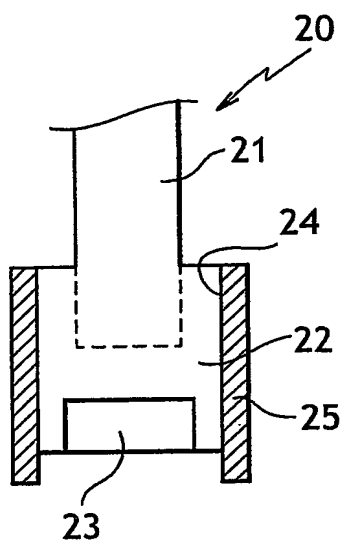


FIG.6

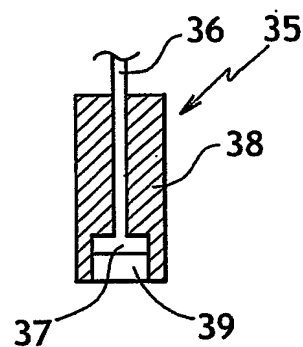


FIG.7

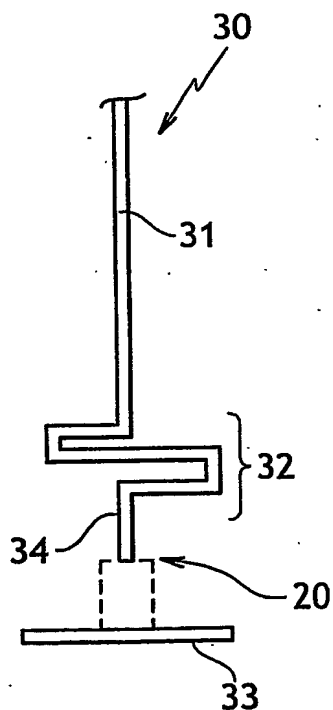


FIG.8

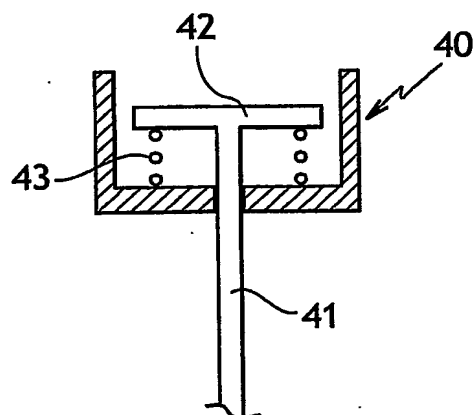


FIG.9

3 / 4

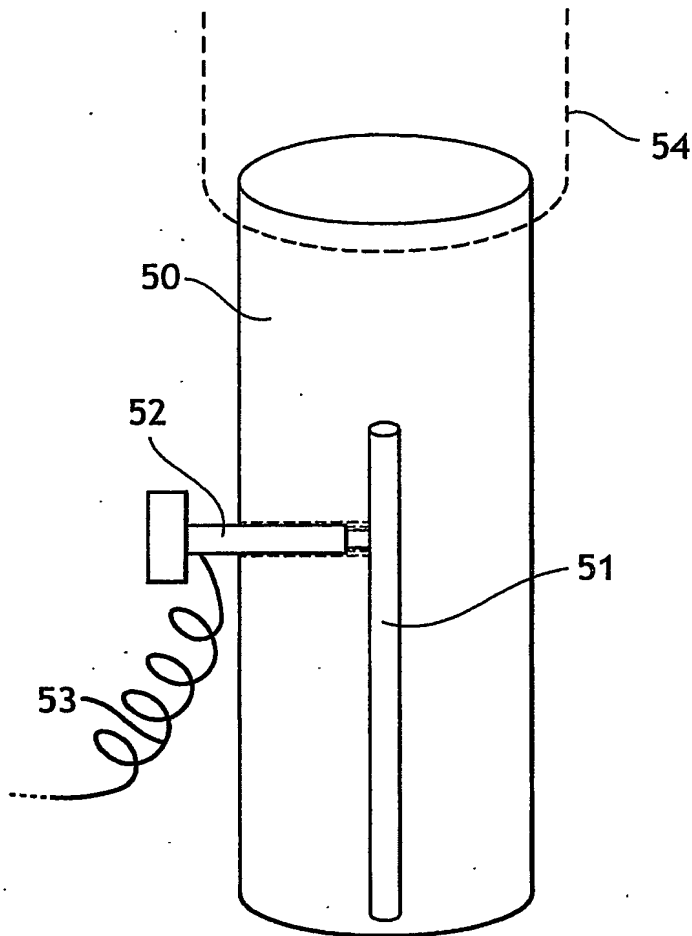


FIG.10

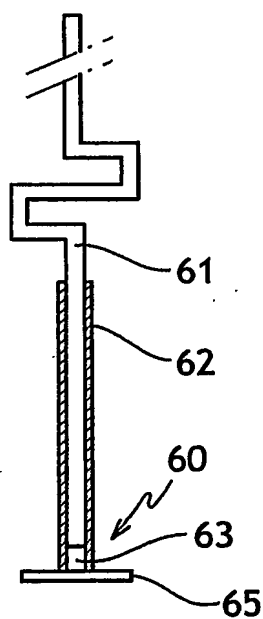


FIG.11

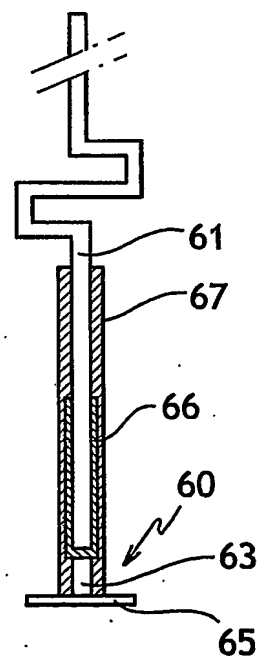


FIG.12

4 / 4

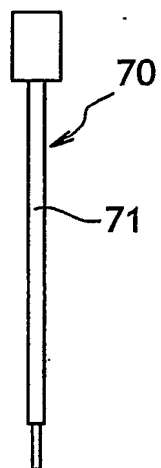


FIG.13

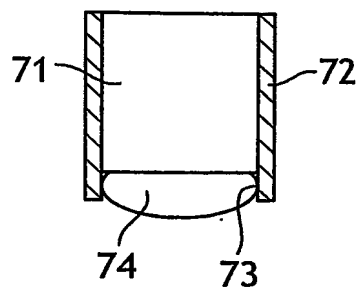


FIG.14

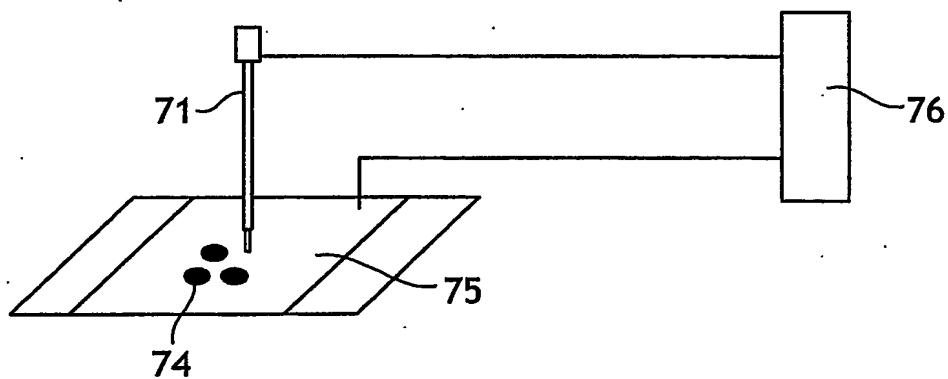


FIG.15

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR2004/050587

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01L3/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/25923 A (DAVIES MARTIN CLEMENT ; ELMES STUART ANTONY (GB); MILNE WILLIAM IRELAN) 11 May 2000 (2000-05-11) cited in the application	1,2,4-6, 16-19
Y	abstract page 1, line 1 - page 2, line 16; claim 1 page 5, line 9 - page 6, line 7; figures 8,11	10-13
Y	WO 99/36760 A (FLOWERS PETER T ; HONKANEN PETER (US); MACE MYLES L (US); MONTAGU JEAN) 22 July 1999 (1999-07-22) abstract; figures 1G,2,4	10-13
A	US 6 365 349 B1 (TABONE JOHN C ET AL) 2 April 2002 (2002-04-02) abstract column 3, lines 41-51; figures	10-13
-/--		

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

\*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

\*E\* earlier document but published on or after the international filing date

\*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*&amp;\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 March 2005

Date of mailing of the international search report

06/04/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Semino, D

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR2004/050587

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/71311 A (NANOSTREAM, INC) 27 September 2001 (2001-09-27) page 10, line 1 - page 12, line 20; claims 1-3; figures 1,2 -----	1,25,26
A	US 5 486 337 A (OHKAWA ET AL) 23 January 1996 (1996-01-23) column 5, lines 27-47; figure 1 column 7, lines 8-35; figure 4 column 7, lines 53-67; figure 6 -----	1,25,26
A	US 6 416 294 B1 (GRUHLER HOLGER ET AL) 9 July 2002 (2002-07-09) abstract; figures 1,2 column 10, lines 46-54 -----	1,16
P,A	FR 2 839 662 A (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE CNRS) 21 November 2003 (2003-11-21) page 1, line 5 - page 6, line 28; figures 1-6 page 10, lines 10-36 -----	1,25,26



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2004/050587

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0025923	A	11-05-2000	EP 1126915 A1	29-08-2001
			GB 2360957 A , B	10-10-2001
			GB 2375315 A	13-11-2002
			WO 0025923 A1	11-05-2000
			US 6723569 B1	20-04-2004
WO 9936760	A	22-07-1999	US 6201639 B1	13-03-2001
			US 2004126895 A1	01-07-2004
			US 6269846 B1	07-08-2001
			AT 241156 T	15-06-2003
			AU 753950 B2	31-10-2002
			AU 2114699 A	02-08-1999
			AU 3105199 A	11-10-1999
			CA 2318242 A1	22-07-1999
			CA 2324354 A1	23-09-1999
			DE 69908120 D1	26-06-2003
			DE 69908120 T2	18-03-2004
			EP 1055108 A1	29-11-2000
			EP 1073926 A1	07-02-2001
			JP 2002507763 T	12-03-2002
			JP 2002509274 T	26-03-2002
			US 2002154396 A1	24-10-2002
			US 6262838 B1	17-07-2001
			WO 9936760 A1	22-07-1999
			WO 9947964 A1	23-09-1999
			US 6185030 B1	06-02-2001
			US 6335824 B1	01-01-2002
			US 6407858 B1	18-06-2002
			US 6428752 B1	06-08-2002
			US 6722395 B2	20-04-2004
			US 2002083998 A1	04-07-2002
			US 2003057379 A1	27-03-2003
US 6365349	B1	02-04-2002	AU 736776 B2	02-08-2001
			AU 8504598 A	16-02-1999
			CA 2297681 A1	04-02-1999
			CN 1264319 A	23-08-2000
			EP 0996500 A1	03-05-2000
			HU 0003296 A2	28-02-2001
			JP 2001511415 T	14-08-2001
			NZ 501776 A	26-10-2001
			WO 9905308 A2	04-02-1999
WO 0171311	A	27-09-2001	AU 4754401 A	03-10-2001
			WO 0171311 A2	27-09-2001
			US 2002003177 A1	10-01-2002
US 5486337	A	23-01-1996	NONE	
US 6416294	B1	09-07-2002	DE 19802368 C1	05-08-1999
			AT 214634 T	15-04-2002
			DE 59901006 D1	25-04-2002
			WO 9937400 A1	29-07-1999
			EP 1049538 A1	08-11-2000
			JP 3463929 B2	05-11-2003
			JP 2002500946 T	15-01-2002
FR 2839662	A	21-11-2003	FR 2839662 A1	21-11-2003

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2004/050587

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2839662	A	AU 2003251044 A1	02-12-2003
		CA 2485749 A1	27-11-2003
		EP 1509324 A1	02-03-2005
		WO 03097238 A1	27-11-2003
<hr/>			

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR2004/050587

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 B01L3/02

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 B01L

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 00/25923 A (DAVIES MARTIN CLEMENT ; ELMES STUART ANTONY (GB); MILNE WILLIAM IRELAN) 11 mai 2000 (2000-05-11) cité dans la demande	1,2,4-6, 16-19
Y	abrégé page 1, ligne 1 - page 2, ligne 16; revendication 1 page 5, ligne 9 - page 6, ligne 7; figures 8,11	10-13
Y	WO 99/36760 A (FLOWERS PETER T ; HONKANEN PETER (US); MACE MYLES L (US); MONTAGU JEAN) 22 juillet 1999 (1999-07-22) abrégé; figures 1G,2,4 ----- -/--	10-13

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

18 mars 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

06/04/2005

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Semino, D

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 6 365 349 B1 (TABONE JOHN C ET AL) 2 avril 2002 (2002-04-02) abrégé colonne 3, ligne 41-51; figures -----	10-13
A	WO 01/71311 A (NANOSTREAM, INC) 27 septembre 2001 (2001-09-27) page 10, ligne 1 - page 12, ligne 20; revendications 1-3; figures 1,2 -----	1,25,26
A	US 5 486 337 A (OHKAWA ET AL) 23 janvier 1996 (1996-01-23) colonne 5, ligne 27-47; figure 1 colonne 7, ligne 8-35; figure 4 colonne 7, ligne 53-67; figure 6 -----	1,25,26
A	US 6 416 294 B1 (GRUHLER HOLGER ET AL) 9 juillet 2002 (2002-07-09) abrégé; figures 1,2 colonne 10, ligne 46-54 -----	1,16
P,A	FR 2 839 662 A (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE CNRS) 21 novembre 2003 (2003-11-21) page 1, ligne 5 - page 6, ligne 28; figures 1-6 page 10, ligne 10-36 -----	1,25,26

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR2004/050587

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0025923	A	11-05-2000	EP 1126915 A1	29-08-2001
			GB 2360957 A , B	10-10-2001
			GB 2375315 A	13-11-2002
			WO 0025923 A1	11-05-2000
			US 6723569 B1	20-04-2004
WO 9936760	A	22-07-1999	US 6201639 B1	13-03-2001
			US 2004126895 A1	01-07-2004
			US 6269846 B1	07-08-2001
			AT 241156 T	15-06-2003
			AU 753950 B2	31-10-2002
			AU 2114699 A	02-08-1999
			AU 3105199 A	11-10-1999
			CA 2318242 A1	22-07-1999
			CA 2324354 A1	23-09-1999
			DE 69908120 D1	26-06-2003
			DE 69908120 T2	18-03-2004
			EP 1055108 A1	29-11-2000
			EP 1073926 A1	07-02-2001
			JP 2002507763 T	12-03-2002
			JP 2002509274 T	26-03-2002
			US 2002154396 A1	24-10-2002
			US 6262838 B1	17-07-2001
			WO 9936760 A1	22-07-1999
			WO 9947964 A1	23-09-1999
			US 6185030 B1	06-02-2001
			US 6335824 B1	01-01-2002
			US 6407858 B1	18-06-2002
			US 6428752 B1	06-08-2002
			US 6722395 B2	20-04-2004
			US 2002083998 A1	04-07-2002
			US 2003057379 A1	27-03-2003
US 6365349	B1	02-04-2002	AU 736776 B2	02-08-2001
			AU 8504598 A	16-02-1999
			CA 2297681 A1	04-02-1999
			CN 1264319 A	23-08-2000
			EP 0996500 A1	03-05-2000
			HU 0003296 A2	28-02-2001
			JP 2001511415 T	14-08-2001
			NZ 501776 A	26-10-2001
			WO 9905308 A2	04-02-1999
WO 0171311	A	27-09-2001	AU 4754401 A	03-10-2001
			WO 0171311 A2	27-09-2001
			US 2002003177 A1	10-01-2002
US 5486337	A	23-01-1996	AUCUN	
US 6416294	B1	09-07-2002	DE 19802368 C1	05-08-1999
			AT 214634 T	15-04-2002
			DE 59901006 D1	25-04-2002
			WO 9937400 A1	29-07-1999
			EP 1049538 A1	08-11-2000
			JP 3463929 B2	05-11-2003
			JP 2002500946 T	15-01-2002
FR 2839662	A	21-11-2003	FR 2839662 A1	21-11-2003

### Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

PCT/FR2004/050587

Formulaire PCT/ISA/210 (annexe familles de brevets) (Janvier 2004)